

EFEK ANTIBAKTERI KOMBINASI DAUN TEH HIJAU (*Camellia sinensis* L.) DAN KLORAMFENIKOL PADA BAKTERI *Escherichia coli* ATAU *Staphylococcus aureus* SECARA IN VITRO

Nabila Lisna Asyarkia, Reza Hakim*, Erna Sulistyowati
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Latar Belakang : Pengendalian resistensi bakteri terhadap suatu antibiotik yaitu menggunakan kombinasi herbal dengan antibiotik. Daun teh hijau memiliki efek antibiotik langsung dengan cara merusak membran sel bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat kombinasi ekstrak metanolik atau dekokta daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dengan kloramfenikol terhadap *Escherichia coli* atau *Staphylococcus aureus*.

Metode : Uji Zona Inhibisi (ZOI) dilakukan dengan metode AZDAST (*Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test*) dengan modifikasi sumuran pada biakan media *Nutrient Agar* (NA) *Escherichia coli* atau *Staphylococcus aureus*. Uji ZOI kombinasi menggunakan kloramfenikol dosis tinggi (KDT), kloramfenikol dosis rendah (KDR) dengan ekstrak metanolik *Camellia sinensis* dosis tinggi (MDT) dan rendah (MDR) atau dekokta *Camellia sinensis* dosis tinggi (DDT) dan rendah (DDR). Data ZOI diuji statistik menggunakan SPSS uji *OneWay ANOVA* ($p < 0,05$).

Hasil: Kombinasi KDT+ MDT (20,7±7,37 mm), KDT + MDR (19,7 ±10,7 mm), dan KDR+ MDR (12,7 ±7 mm) dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* secara signifikan ($p = 0,000$). Kombinasi KDR + MDT (11±11,5 mm) tidak dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Kombinasi KDT/KDR+ DDT/DDR tidak dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Kombinasi KDT dan DDT/DDR dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*, sedangkan kombinasi KDT + MDT terhadap *E. coli* didapatkan hasil yang tidak sinergi.

Kesimpulan : Daun teh hijau (*Camellia sinensis*) menunjukkan hasil sinergi dengan kloramfenikol pada *S. aureus*, tetapi tidak sinergi pada *E. coli*.

Kata Kunci : *Camellia sinensis*, Kloramfenikol, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, resistensi antibiotik

*dr. Reza Hakim, M. BioMed; Jl. MT Haryono 193, Dinoyo, Lowokwaru, Malang; (0341) 578920; rezahakim@unisma.ac.id

ANTIBACTERIAL EFFECTS OF GREEN TEA LEAVES (*Camellia sinensis* L.) AND CHLORAMPHENICOL COMBINATION IN *Escherichia coli* OR *Staphylococcus aureus* BACTERIA ON IN VITRO

Nabila Lisna Asyarkia, Reza Hakim*, Erna Sulistyowati
Faculty of Medicine, University of Islam Malang

ABSTRACT

Background: The control of bacterial resistance toward an antibiotic uses herbal combinations with antibiotics. Green tea leaves have direct antibiotic effects by damaging bacterial cell membranes. This study aimed to find out the inhibitory strength of the combination of methanolic extract or decocta of green tea leaves (*Camellia sinensis*) with chloramphenicol against *Escherichia coli* or *Staphylococcus aureus*.

Methods: Zone of Inhibition Test (ZOI) was carried out using the *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST) method with modification of the well on a culture of *Nutrient Agar* (NA) of *Escherichia coli* or *Staphylococcus aureus*. The ZOI combination uses high-dose chloramphenicol (KDT), low-dose chloramphenicol (KDR) with high-dose methanolic extract of *Camellia sinensis* (MDT) and low-dose methanolic extract of *Camellia sinensis* (MDR) or high-dose of decocta of *Camellia sinensis* (DDT) and low-dose of decocta of *Camellia sinensis* (DDR). ZOI data were tested statistically using the SPSS *OneWay ANOVA* test ($p < 0.05$).

Results: Combination of KDT + MDT (20.7±7.37 mm), KDT + MDR (19.7±10.7 mm), and KDR + MDR (12.7±7 mm) is able to significantly inhibit the growth of *S. aureus* ($p = 0,000$). The combination of KDR + MDT (11±11.5 mm) cannot inhibit the growth of *S. aureus*. The combination of KDT/KDR + DDT/DDR cannot inhibit the growth of *S. aureus*. The combination of KDT and DDT/DDR is able to inhibit the growth of *E. coli*, while the combination of KDT + MDT on *E. coli* are not synergistic.

Conclusion: Green tea leaves (*Camellia sinensis*) show synergy with chloramphenicol on *S. aureus*, but not synergy on *E. coli*.

Keywords: *Camellia sinensis*, Chloramphenicol, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, antibiotics resistance

*dr. Reza Hakim, M. BioMed; Jl. MT Haryono 193, Dinoyo, Lowokwaru, Malang; (0341) 578920; rezahakim@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Kasus resistensi bakteri terhadap antibiotik menjadi masalah serius dalam dunia kesehatan. Menurut WHO (2013) ada banyak kasus morbiditas karena resistensi antibiotik dan 23.000 diantaranya meninggal dunia¹. Hasil penelitian dari Antimicrobial Resistant in Indonesia (AMRIN-Study) menunjukkan bahwa dari 2494 masyarakat, 43% bakteri *E. coli* resisten pada beberapa antibiotik salah satunya yaitu kloramfenikol (25%) dan hasil penelitian di rumah sakit di temukan 81% bakteri *E. coli* resisten terhadap antibiotik kloramfenikol (43%)². Peningkatan kasus bakteri yang resisten terhadap antibiotik tidak diimbangi dengan penemuan antibiotik baru³. Di Indonesia, banyak antibiotik yang dapat dibeli tanpa resep, sehingga pemakaiannya tidak terkontrol. Salah satu cara mengendalikan resistensi bakteri terhadap suatu antibiotik yaitu menggunakan senyawa yang memiliki potensi aktivitas antibiotik terhadap strain resisten⁴.

Escherichia coli dan *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab infeksi tersering di dunia. Tingkat infeksi *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* terus meningkat disertai peningkatan resistensi terhadap antibiotik yang digunakan. *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* memiliki kemampuan adaptasi yang baik sehingga banyak antibiotik yang resisten⁵. Data kepekaan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik menunjukkan penurunan yang dominan di rumah sakit Kentucky USA dalam kurun waktu 10 tahun (1990-2000), terutama pada antibiotik kloramfenikol. Hal ini dikarenakan tidak terkendalinya penggunaan antibiotik sehingga meningkatkan resistensi bakteri yang awalnya sensitif⁶.

Herbal memiliki potensi sebagai antibiotik walaupun tidak digunakan sebagai obat primer namun digunakan sebagai terapi adjuvan. Daun teh hijau (*Camellia sinensis*) memiliki potensi antibiotik karena kandungan polifenol yang tinggi⁷. Daun teh hijau (*Camellia sinensis*) memiliki senyawa Epigallocatechin-3 gallate/EGCG (turunan katekin) yang memiliki efek antibiotik langsung dengan cara merusak membran sel bakteri, menghambat sintesa asam lemak, dan menghambat aktivitas enzim pada bakteri⁸. Pada penelitian sebelumnya didapatkan efek antibiotik dari ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*^{9,10}, tetapi belum ada penelitian mengenai peran herbal daun teh hijau (*Camellia sinensis*) sebagai adjuvan kloramfenikol, terutama dengan adanya masalah resistensi yang semakin meningkat. Hal ini mendorong keingintahuan dan dilakukannya penelitian untuk menemukan potensi herbal daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap kinerja obat antibiotik kloramfenikol secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu, dan Tempat Penelitian

Penelitian ini adalah eksperimental laboratorium secara *in vitro*. Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Herbal Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang pada bulan Februari – Mei 2019

Pembuatan Ekstrak Metanolik Daun Teh Hijau

Pembuatan ekstrak metanolik diawali dengan mempersiapkan simplisia daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dalam bentuk serbuk yang diperoleh dari UPT Materia Medika, Batu. Simplisia ditimbang menggunakan neraca digital sebanyak 20 gram dan dicampurkan dengan pelarut metanol 96% sebanyak 200 ml untuk direndam didalam Erlenmeyer. Erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil lalu dimasukkan dalam shaker water bath dan dibiarkan selama 24 jam. Setelah itu hasil ekstrak disaring dengan vacuum buchner dan dievaporasi pada suhu 55°C. Selanjutnya, ekstrak dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C. Bila ekstrak telah kering dilarutkan kembali dengan metanol 96% hingga diperoleh ekstrak cair menjadi 1 gr/10 ml^{11,12}.

Pembuatan Dekokta Daun Teh Hijau

Pembuatan dekokta diawali dengan mempersiapkan simplisia daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dalam bentuk serbuk yang diperoleh dari UPT Materia Medika, Batu, Malang, Jawa Timur. Pada penelitian ini menggunakan dekokta 10%. Simplisia ditimbang menggunakan neraca digital sebanyak 10 gram kemudian diletakkan dalam panci dekokta, lalu ditambahkan 100 ml aquadest atau air ke dalam panci tersebut, dan dipanaskan selama 30 menit dengan suhu 90°C. Setelah itu, diangkat lalu disaring menggunakan vacuum buchner^{13,14}.

Pembuatan Larutan Antibiotik Kloramfenikol

Pembuatan larutan kloramfenikol dilakukan dengan menyiapkan kapsul kloramfenikol 250 mg. Kemudian serbuk kloramfenikol ditimbang sebanyak 1 g dan dilarutkan dalam 10 ml aquadest steril sehingga didapat konsentrasi 100 mg/ml. Dari larutan 100 mg/ml diambil 1 ml kemudian ditambahkan aquadest steril hingga didapatkan konsentrasi 10 mg/ml. Dari konsentrasi 10 mg/ml diambil 1 ml ditambahkan aquadest steril hingga 10 ml sehingga didapatkan larutan 1 mg/ml. Larutan antibiotik ini disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4°C sebagai stok antibiotik¹⁵.

Uji Zona Hambat (ZOI)

Pengujian zona inhibisi dilakukan dengan menggunakan metode agar dengan modifikasi sumuran¹⁶. Perluasan clear zone menandakan peningkatan inhibisi pada bakteri. Uji zona inhibisi diawali dengan melakukan persiapan media dan

bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri diambil dari inokulum bakteri menggunakan oshe steril kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi berisi NaCl 0,9% steril 10 ml hingga keruh. Untuk menyamakan jumlah bakteri diambil sampel bakteri sebanyak 3 ml dengan mikropipet dan dimasukkan dalam kuvet dan dibaca menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Dicatat nilai absorbansi dan dilakukan pengenceran sesuai dengan rumus berikut,

$$\text{Faktor dilusi} = \frac{\text{abs. sampel}}{\text{abs. target (0,2)}} \times \text{volume sampel} \dots\dots\dots(1)^{16}$$

Metode difusi sumuran dibuat dengan cara menuang media Nutrient Agar (NA) sebanyak 20 ml – 25 ml yang telah dicampur dengan suspensi bakteri sebanyak 1% dari media (10 ml/ 1 liter media) secara pour plate kemudian dibuat lubang sumuran dengan diameter 6 mm¹⁶.

Media tersebut dibagi menjadi lima kelompok yakni larutan antibiotik kloramfenikol tunggal, ekstrak metanolik daun teh hijau (*Camellia sinensis*) tunggal, dekokta daun teh hijau (*Camellia sinensis*) tunggal, kombinasi larutan antibiotik kloramfenikol dan ekstrak metanolik daun teh hijau (*Camellia sinensis*), dan kombinasi larutan antibiotik kloramfenikol dan dekok herbal daun teh hijau (*Camellia sinensis*). Dosis kloramfenikol dan herbal daun teh hijau menggunakan 2 dosis yang berbeda tiap bahan cobanya, dosis pertama yaitu kloramfenikol dosis rendah (KDR) dan ekstrak metanolik/dekokta daun teh hijau dosis rendah (MDR/DDR) yang merupakan dosis ZOI tunggal dengan diameter ≤ 10 mm/sebelum clear zone menghilang, sedangkan kloramfenikol dosis tinggi (KDT) dan ekstrak metanolik/dekokta daun teh hijau dosis tinggi (MDT/DDT) yaitu 2 kali lebih tinggi dari pada dosis KDR dan MDR/DDR.

Setiap lubang sumuran diisi dengan herbal/antibiotik 30 μ L/ml untuk ZOI tunggal, sedangkan untuk ZOI kombinasi di masukkan 15 μ L/ml herbal dan 15 μ L/ml larutan antibiotik yang telah di tentukan dosisnya. Kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 18 jam. Pemeriksaan zona inhibisi dilakukan dengan cara menghitung diameter dari clear zone dengan menggunakan mistar. Mistar yang digunakan memiliki tingkat ketelitian 1 mm¹⁷.

Analisis Data Statistik

Pembacaan hasil ZOI tunggal dan kombinasi dilakukan menggunakan mistar dengan tingkat ketelitian 1 mm dan dimasukkan kedalam *Microsoft Excel 2013* untuk mendapatkan rerata dan standar deviasi. ZOI diuji statistik menggunakan SPSS, Uji normalitas distribusi data menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas data menggunakan *Lavene*. Karena data menunjukkan terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$), Maka dilanjutkan menggunakan uji *OneWay ANOVA* dengan membandingkan

seluruh kelompok, baik tunggal ataupun kombinasi ($p < 0,05$). Interpretasi hasil ZOI kombinasi menurut AZDAST yaitu, jika AB (kedua senyawa kombinasi yang diujikan) lebih besar dari HDR & ADR dan lebih kecil atau lebih besar dari HDT dan/atau ADT disebut sinergis. Jika AB sama dengan HDT dan/atau ADT disebut aditif. Jika AB lebih kecil dari HDR atau ADR disebut antagonis. Jika salah satu dari HDR atau ADR sama dengan nol dan AB lebih besar dari HDR & ADR dan lebih kecil atau lebih besar dari HDT dan/atau ADT disebut potensiasi. Jika AB hampir sama dengan A/B maka tidak bisa dibedakan/*Not distinguishable*.

HASIL

Hasil Pengukuran ZOI Kloramfenikol Tunggal

Hasil pengukuran *Zone of Inhibition* (ZOI) antibiotik kloramfenikol terhadap *E.coli* dan *S.aureus* dapat diketahui dengan adanya zona bening pada bagian luar sumuran dan diukur menggunakan mistar 1 mm. Pada ZOI tunggal antibiotik kloramfenikol ini menggunakan dilusi 1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512. Didapatkan ZOI terhadap bakteri *E. coli* pada dilusi 1, 1/2. Sedangkan terhadap bakteri *S. aureus* pada dilusi 1, 1/2, 1/4.

Tabel 1. Hasil Rerata dan Standart Deviasi Pengukuran ZOI kloramfenikol terhadap *E.coli* dan *S.aureus*

Dilusi (Konsentrasi)	ZOI $\bar{X} \pm SD$ (mm)	
	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>
1 (10 mg/ml)	16,7 \pm 0,57	13,7 \pm 1,52
1/2 (5 mg/ml)	10,7 \pm 0,57	6,3 \pm 5,5
1/4 (2,5 mg/ml)	3 \pm 5,19	0
1/8 (1,25 mg/ml)	0	0
1/16 (0,625 mg/ml)	0	0

Berdasarkan diameter ZOI didapatkan hasil bahwa kloramfenikol memiliki daya hambat yang lebih efektif terhadap *S.aureus* dibandingkan dengan *E.coli*. Hal ini dapat dilihat dari zona hambat yang dihasilkan pada dilusi 1/4 masih menghambat pertumbuhan *S.aureus* sedangkan pada *E.coli* sudah tidak didapatkan clear zone. Selain itu, besarnya clear zone tergantung dari besarnya konsentrasi, semakin besar konsentrasi maka semakin besar pula clear zone yang dihasilkan¹⁸.

Hasil Pengukuran ZOI Ekstrak Metanolik Daun Teh Hijau Tunggal

Hasil pengukuran *Zone of Inhibition* (ZOI) antibiotik kloramfenikol terhadap *E.coli* dan *S.aureus* dapat diketahui dengan adanya zona bening pada bagian luar sumuran dan diukur menggunakan mistar 1 mm. Pada ZOI tunggal antibiotik kloramfenikol ini menggunakan dilusi 1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512. Didapatkan ZOI terhadap bakteri *E. coli* pada dilusi 1, 1/2. Sedangkan terhadap bakteri *S. aureus* pada dilusi 1, 1/2, 1/4.

Tabel 2. Hasil Rerata dan Standart Deviasi Pengukuran ZOI ekstrak metanolik daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap *E.coli* dan *S.aureus*

Dilusi (Konsentrasi)	ZOI $\bar{X} \pm SD$ (mm)	
	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>
1 (100 mg/ml)	9,7 \pm 0,57	8,3 \pm 0,57
1/2 (50 mg/ml)	9,3 \pm 0,57	8 \pm 0
1/4 (25 mg/ml)	8,7 \pm 0,57	0
1/8 (12,5 mg/ml)	0	0
1/16 (6,25 mg/ml)	0	0

Berdasarkan diameter ZOI didapatkan hasil bahwa ekstrak metanolik daun teh hijau (*Camellia sinensis*) memiliki daya hambat yang lebih efektif terhadap *S.aureus* dibandingkan dengan *E.coli*. Hal ini dapat dilihat dari zona hambat yang dihasilkan pada dilusi 1/4 masih menghambat pertumbuhan *S.aureus* sedangkan pada *E.coli* sudah tidak didapatkan *clear zone*¹⁹. Selain itu, besarnya *clear zone* tergantung dari besarnya konsentrasi, semakin besar konsentrasi maka semakin besar pula *clear zone* yang dihasilkan.

Hasil Pengukuran ZOI Dekokta Daun Teh Hijau Tunggal

Hasil pengukuran ZOI dekokta daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap *E.coli* dan *S.aureus* diukur menggunakan mistar 1 mm. Pada ZOI tunggal dekokta ini menggunakan dilusi 1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512. Tidak didapatkan ZOI terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* pada semua dilusi.

Hasil Pengukuran ZOI Kombinasi Kloramfenikol dengan Ekstrak Metanolik Daun Teh Hijau

Pengujian ZOI kombinasi menggunakan 2 dosis yang berbeda dari tiap bahan cobanya, yaitu dosis pertama yaitu kloramfenikol dosis rendah (KDR) dan ekstrak metanolik daun teh hijau dosis rendah (MDR) yang merupakan dosis ZOI tunggal dengan diameter ≤ 10 mm/sebelum *clear zone* menghilang, sedangkan kloramfenikol dosis tinggi

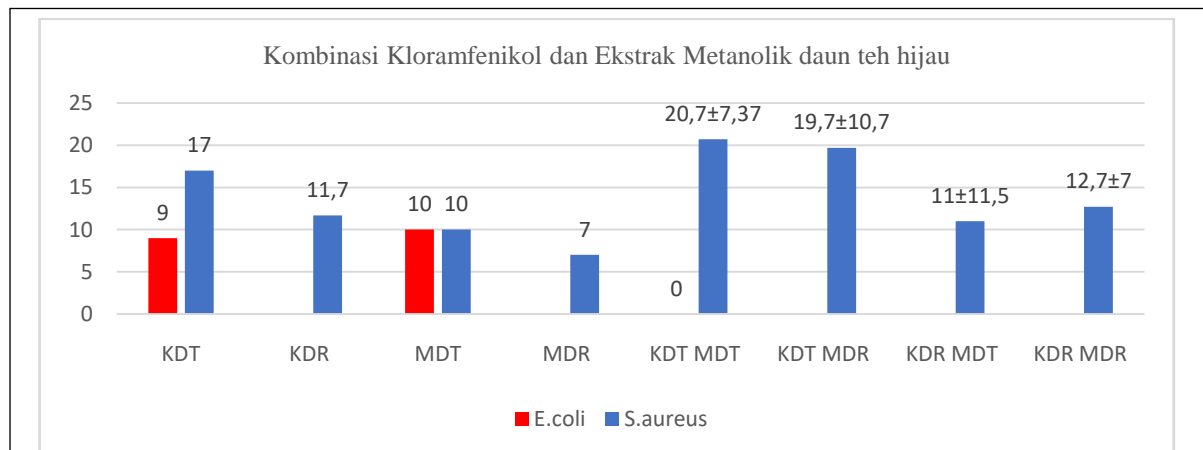
(KDT) dan ekstrak metanolik daun teh hijau dosis tinggi (MDT) yaitu 2 kali lebih tinggi dari pada dosis KDR dan MDR.

Berdasarkan grafik 1 didapatkan hasil bahwa kombinasi kloramfenikol dengan ekstrak metanolik daun teh hijau (*Camellia sinensis*) lebih efektif terhadap *S.aureus* dibandingkan dengan *E.coli*. Hasil pengukuran ZOI kombinasi dibandingkan dengan ZOI antibiotik maupun herbal tunggal. Didapatkan hasil antara kombinasi kloramfenikol dosis tinggi dan ekstrak metanolik daun teh hijau dosis tinggi atau rendah pada *S.aureus* bersifat sinergis, sedangkan kombinasi kloramfenikol dosis tinggi dan ekstrak metanolik daun teh hijau dosis tinggi pada *E.coli* bersifat antagonis walau tidak signifikan. Kombinasi kloramfenikol dosis rendah dengan ekstrak metanolik dosis rendah pada *S.aureus* *Not distinguishable*/tidak potensiasi.

Hasil Pengukuran ZOI Kombinasi Kloramfenikol dengan Dekokta Daun Teh Hijau

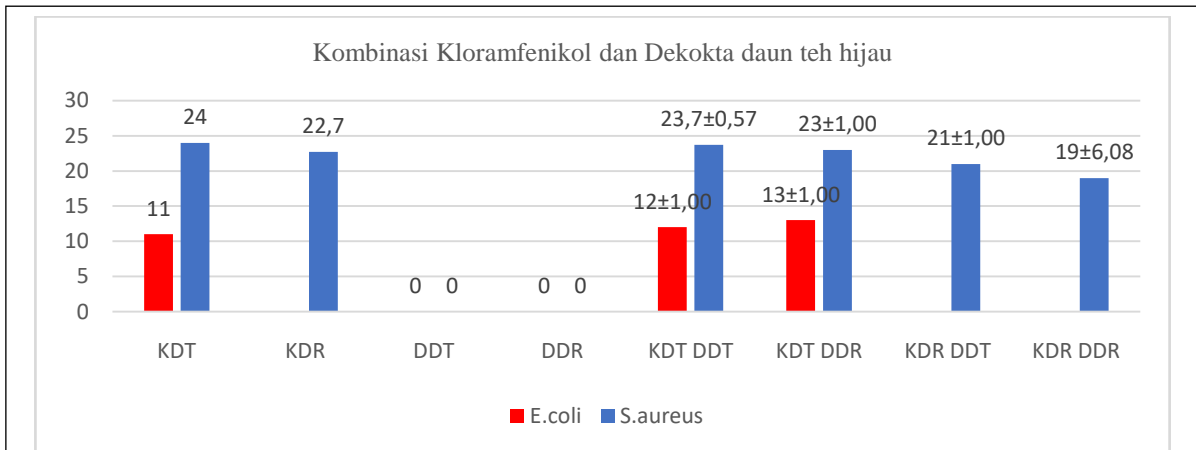
Pengujian ZOI kombinasi menggunakan 2 dosis yang berbeda dari tiap bahan cobanya, yaitu dosis pertama yaitu kloramfenikol dosis rendah (KDR) dan dekokta daun teh hijau dosis rendah (DDR) yang merupakan dosis ZOI tunggal dengan diameter ≤ 10 mm/sebelum *clear zone* menghilang, sedangkan kloramfenikol dosis tinggi (KDT) dan dekokta daun teh hijau dosis tinggi (DDT) yaitu 2 kali lebih tinggi dari pada dosis KDR dan DDR.

Berdasarkan grafik 2 didapatkan hasil bahwa kombinasi kloramfenikol dengan dekokta daun teh hijau (*Camellia sinensis*) lebih efektif terhadap *E.coli* dibandingkan dengan *S.aureus*. Hasil pengukuran ZOI kombinasi dibandingkan dengan ZOI antibiotik maupun herbal tunggal. Didapatkan hasil antara kombinasi kloramfenikol dosis tinggi atau rendah dan dekokta daun teh hijau dosis tinggi atau rendah pada *S.aureus* bersifat antagonis, sedangkan kombinasi kloramfenikol dosis tinggi dan dekokta daun teh hijau dosis tinggi atau rendah pada *E.coli* bersifat potensiasi.



Grafik 1. Kombinasi Kloramfenikol dan Ekstrak Metanolik Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis*)

Keterangan : KDT, Kloramfenikol Dosis Tinggi; KDR, Kloramfenikol Dosis Rendah; MDT, Ekstrak Metanolik daun teh hijau Dosis Tinggi; MDR, Ekstrak Metanolik daun teh hijau Dosis Rendah; *E.coli*, *Escherichia coli*; *S.aureus*, *Staphylococcus aureus*



Grafik 2. Kombinasi Kloramfenikol dan Dekokta Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis*)

Keterangan : KDT, Kloramfenikol Dosis Tinggi; KDR, Kloramfenikol Dosis Rendah; DDT, Dekokta daun teh hijau Dosis Tinggi; DDR, Dekokta daun teh hijau Dosis Rendah; *E.coli*, *Escherichia coli*; *S.aureus*, *Staphylococcus aureus*

PEMBAHASAN

Daya Hambat Kloramfenikol Tunggal

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa kloramfenikol memiliki daya hambat yang lebih besar terhadap bakteri *S. aureus* dibandingkan *E. coli*. Hal ini ditunjukkan dengan gambaran zona bening (*clear zone*) yang terbentuk pada cawan petri.

Hal ini dikarenakan ada perbedaan pada komponen dari dinding sel dimana *Staphylococcus aureus* hanya memiliki membran plasma tunggal yang dikelilingi dinding sel berupa peptidoglikan, sedangkan *Escherichia coli* memiliki membran ganda yaitu membran plasma dikelilingi oleh membran luar permeabel, sehingga penetrasi dari zat antibiotik kloramfenikol lebih sulit untuk menembus bakteri *E.coli* dibandingkan *S.aureus*²⁰.

Kloramfenikol sendiri memiliki mekanisme kerja dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri oleh kloramfenikol yaitu melalui pelekatan pada ribosom 50S dan menghambat enzim peptidil transferase, yang mengakibatkan ikatan peptida tidak terbentuk pada proses sintesis protein bakteri²¹.

Hasil juga menunjukkan jika semakin tinggi konsentrasi, semakin besar pula zona bening (*Clear zone*) yang terbentuk disekitar sumuran. Hal ini sesuai dengan teori bahwa semakin tinggi konsentrasi, jumlah senyawa antibakteri yang dilepaskan semakin besar sehingga mempermudah penetrasi senyawa tersebut ke dalam sel bakteri²².

Pada penelitian ini zona hambat yang dihasilkan dari *S.aureus* lebih efektif dibandingkan pada *E.coli*. Sedangkan pada penelitian Kusumawati (2019) menunjukkan adanya zona inhibisi terhadap bakteri *S.aureus* dengan dilusi 1/2/Konsentrasi 0,5 mg/ml (32,67 mm) - 1/64/Konsentrasi 0,0625 mg/ml (11,67 mm) dan pada *E. coli* didapatkan zona inhibisi pada dilusi 1/2/Konsentrasi 0,5 mg/ml

(34,67 mm) – 1/32/Konsentrasi 0,031 mg/ml (12,00 mm). Perbedaan hasil diduga karena sediaan antibiotik yang digunakan berbeda, selain itu juga dapat disebabkan perbedaan cara ZOI yang digunakan. Pada penelitian ini bakteri dicampurkan dengan media NA dan di platting di *bio safety cabinet*, hal ini menyebabkan perbedaan ketebalan dan ketipisan dari tiap media dikarenakan posisi penyangga *bio safety cabinet* ada yang tidak sama (miring), sedangkan pada penelitian Kusumawati (2019) dilakukan dengan metode zig – zag sehingga bakteri yang di media lebih merata²³.

Daya Hambat Ekstrak Daun Teh Hijau Tunggal

Hasil uji ZOI tunggal ekstrak metanolik daun teh hijau terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* terbukti memiliki efek antibakteri dengan adanya zona bening di sekitar sumuran, meskipun daya hambat terhadap bakteri *S. aureus* lebih besar dibandingkan *E. coli*. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Hardianto (2013) yang menunjukkan adanya zona inhibisi terhadap bakteri *S.aureus* dengan konsentrasi 50% (24,7 mm) - 0,78125% (9 mm)²⁴. Penelitian oleh Zeniusa (2017) menunjukkan adanya zona inhibisi terhadap bakteri *E.coli* dengan konsentrasi 90% dan 100% dengan diameter zona hambat yaitu 19,40 mm¹⁰. Hal ini membuktikan bahwa kandungan katekin dan turunannya dalam daun teh hijau memiliki efek antibiotik yang bekerja langsung dengan cara merusak membran sel bakteri, dinding sel, dan menghambat aktivitas enzim pada bakteri. Selain itu juga mengandung quercetin dan tanin. Quercetin dapat bekerja dengan cara menghambat DNA gyrase. Sedangkan tanin mampu merusak membran sel bakteri^{15,25,26}.

Hasil uji ZOI tunggal dekokta daun teh hijau terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* tidak didapatkan efek antibakteri dengan tidak adanya zona bening di sekitar sumuran, walau dosis yang

digunakan sama baik di *S.aureus* dan *E.coli*. hal ini diduga karena proses ekstraksi yang berbeda maka kadar dari komposisi akan berbeda. Dapat juga dikarenakan dosis yang digunakan pada dekokta tidak sama dengan ekstrak metanolik. Hal ini ditunjang dengan penelitian yang dilakukan oleh Uzulanic et.al (2006) dengan teori bahwa perbedaan ekstraksi dengan pelarut yang berbeda-beda akan mempengaruhi efisiensi dari ekstraksi katekin daun teh hijau²⁷. Pada penelitian lain dikatakan bahwa perbedaan daerah, pengolahan, dan varietas dari teh hijau yang digunakan pada tiap penelitian akan mempengaruhi kadar dari katekin daun teh hijau dan menghasilkan zona hambat yang berbeda – beda²⁸.

Daya Hambat Kombinasi Kloramfenikol dengan Ekstrak Metanolik Daun Teh Hijau

Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanolik daun teh hijau dengan antibiotik kloramfenikol memiliki daya hambat yang lebih besar terhadap bakteri *S. aureus* dibandingkan *E. coli*. Hal ini ditunjukkan dengan gambaran zona bening (*clear zone*) yang terbentuk pada cawan petri. Perbedaan hasil diduga terjadi karena adanya perbedaan struktur dinding sel dari bakteri. Dinding sel bakteri Gram positif (*S.aureus*) memiliki struktur yang lebih sederhana dibandingkan dengan dinding sel bakteri Gram negatif (*E.coli*) sehingga mempermudah senyawa yang terkandung dalam ekstrak untuk menembusnya²⁰.

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi kloramfenikol dengan ekstrak metanolik daun teh hijau (*Camellia sinensis*) lebih efektif terhadap *S.aureus* dibandingkan dengan *E.coli*. Hasil pengukuran ZOI kombinasi dibandingkan dengan ZOI antibiotik maupun herbal tunggal. Didapatkan hasil antara kombinasi kloramfenikol dosis tinggi dan ekstrak metanolik daun teh hijau dosis tinggi atau rendah pada *S.aureus* bersifat sinergis, sedangkan kombinasi kloramfenikol dosis tinggi dan ekstrak metanolik daun teh hijau dosis tinggi pada *E.coli* bersifat antagonis walau tidak signifikan. Kombinasi kloramfenikol dosis rendah dengan ekstrak metanolik dosis rendah pada *S.aureus* *Not distinguishable*/tidak potensiasi.

Sifat antagonis yang dihasilkan dari kombinasi kloramfenikol dengan daun teh hijau terhadap *E.coli* tersebut kemungkinan karena adanya sifat bakteriostatik dari kloramfenikol sehingga saat dikombinasikan dengan daun teh hijau yang bersifat bakterisid akan menghasilkan sifat antagonis. Sifat bakteriostatik dan bakterisidal juga dapat ditentukan dengan konsentrasi senyawa tersebut dalam bekerja terhadap bakteri³⁰⁻³³. Seperti menurut Nanizar Zaman-Joenoes (1994), beliau memaparkan dibukunya bahwa bila dua atau lebih obat diberikan bersamaan, maka yang satu dapat menjadi interaktan dari yang lainnya. Ini dapat menyebabkan daya kerja obat berubah, terjadi potensiasi, antagonisme, atau kerja obat berkurang/terhambat³⁴.

Daya Hambat Kombinasi Kloramfenikol dengan Dekokta Daun Teh Hijau

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi kloramfenikol dengan dekokta daun teh hijau (*Camellia sinensis*) lebih efektif terhadap *E.coli* dibandingkan dengan *S.aureus*. Hasil pengukuran ZOI kombinasi dibandingkan dengan ZOI antibiotik maupun herbal tunggal. Didapatkan hasil antara kombinasi kloramfenikol dosis tinggi atau rendah dan dekokta daun teh hijau dosis tinggi atau rendah pada *S.aureus* bersifat antagonis, sedangkan kombinasi kloramfenikol dosis tinggi dan dekokta daun teh hijau dosis tinggi atau rendah pada *E.coli* bersifat potensiasi.

Pada penelitian ini didapatkan tidak didapatkan ZOI tunggal dekokta daun teh hijau. Sedangkan saat dikombinasi dengan kloramfenikol didapatkan adanya hasil yang sinergis/ada potensiasi. Hal ini dapat disebabkan karena adanya sifat zat yang satu meningkatkan kerja zat yang lain³⁴.

Menurut Nanizar Zaman-Joenoes (1994), beliau memaparkan dibukunya bahwa bila dua atau lebih obat diberikan bersamaan, maka yang satu dapat menjadi interaktan dari yang lainnya. Ini dapat menyebabkan daya kerja obat berubah, terjadi potensiasi, antagonisme, atau kerja obat berkurang/terhambat. Sifat antagonis juga dapat disebabkan karena adanya sifat zat yang satu menghambat kerja zat yang lain, sehingga efek farmakologisnya menjadi berkurang bahkan tidak muncul dengan baik karena adanya sifat yang berbeda dari masing - masing obat³⁴.

SIMPULAN

Adapun simpulan dari penelitian ini antara lain :

- 1.Kombinasi ekstrak metanolik daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dengan antibiotik kloramfenikol dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* tapi tidak dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.
- 2.Kombinasi dekokta daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dengan antibiotik kloramfenikol dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* tapi tidak dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

SARAN

Adapun saran yang dapat peneliti berikan untuk meningkatkan dan mengembangkan penelitian ini kedepannya antara lain :

- 1.Melakukan uji fitokimia pada daun teh hijau (*Camellia sinensis*) untuk mengidentifikasi jenis senyawa aktif yang terkandung didalamnya.
- 2.Melakukan uji fraksinasi daun teh hijau (*Camellia sinensis*) untuk mengidentifikasi senyawa yang dapat berinteraksi dengan antibiotik.

3. Melakukan uji KHM dan KBM kombinasi kloramfenikol dengan ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Rio Risandiansyah, S.Ked, MP, PhD selaku reviewer jurnal.

DAFTAR PUSTAKA

1. WHO. Antibiotic Resistance Threats in the United States. USA: US Department of Health and Human Services. USA: World Health Organization. P. 13. 2013.
2. Kemenkes. Pedoman Penggunaan Antibiotik. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. 2011.
3. Fischbach M.A., Walsh T. Antibiotics for Emerging Pathogen. Science. 325(5944): 1089- 1093. 2009.
4. Kaatz, G.W., Moudgal, V.V., Seo, S.M., Kristiansen, J.E. Phenothiazines and thioxanthenes inhibit multidrug efflux pump activity in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. P. 719–726. 2003.
5. Huttner, A., Harbarth, S., Carlet, J., Cosgrove, S., Goossens, H., Holmes, A. et al. Antimicrobial resistance: a Global View from the 2013 World Healthcare Associated Infections Forum. Antimicrobial Resistance and Infection Control. P. 31. 2013.
6. Refdanita, et al. Pola Kepekaan Kuman Terhadap Antibiotik Di Ruang Rawat Intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001-2002. Dalam : Makara, Kesehatan. 8(02): 41-48. 2004.
7. Cabrera, C., Artacho, R., Giménez, R. Beneficial effects of green tea. *Journal of The American College of Nutrition*. 25(2): 79-99. 2006.
8. Mageed MJ, Saif SSJ. Antimicrobial effects of green tea extracts on porphyromonas gingivalis (*in vitro* study). *Journal of Dental and Medical Sciences*. 14(10): 33-39. 2015.
9. Ainiah, Nur. Efek Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) Dalam Memodulasi Aktivitas Amoksisislin Terhadap *Staphylococcus aureus*. [Skripsi] Universitas Hasanuddin. 2018.
10. Zeniusa, P. Ramadhian, MR. Efektifitas Ekstrak Etanol Teh Hijau dalam Menghambat Pertumbuhan *Escherichia coli*. Lampung. 2017.
11. Harborne, J. B. Metode Fitokimia. Cara modern menganalisa Tumbuhan. Terjemahan Kosasih Patmawinata dan Iwang Soediro. Edisi ke 3. Bandung. Penerbit ITB. 1996.
12. Irwanto. Ekstraksi Menggunakan Proses Infudasi, Maserasi dan Perkolasi. Jakarta. 2010.
13. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Herbal Indonesia. Jakarta : Depkes RI. 2008.
14. Kusumaningrum, A., Widiyaningrum, P., Mubarak, I. Penurunan Total Bakteri Daging Ayam dengan Perlakuan Perendaman Infusa Daun Salam (*Syzygium polyanthum*). Jurnal MIPA. Universitas Negeri Semarang ;36(1): 14-19. 2013.
15. Pratiwi, ST. Mikrobiologi farmasi. Jakarta: Penerbit Airlangga. 2008.
16. Risandiansyah, Rio. Induction of Secondary Metabolism Across Actinobacterial Genera [thesis]. South Australia : Flinders University. 2016.
17. Sudirman, T. A. Uji Efektifitas Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *In vitro* [SKRIPSI]. 2014.
18. Fardila, Nuryanti. Efek Antibakteri Kombinasi Dekokta atau Ekstrak Metanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dan Kloramfenikol pada Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara *in vitro* [SKRIPSI]. Universitas Islam Malang. 2019.
19. Khasanah, DW. Efek Antibakteri Kombinasi Daun *Camellia sinensis* L. dengan kotrimoksazol pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara *in vitro* [SKRIPSI]. Universitas Islam Malang. 2019.
20. Jawetz et al. Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick & Adelberg, Ed 23. Translation of Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology, 23th Ed. Alih Bahasa Oleh Hartanto, H., et al. Jakarta : Penerbit Kedokteran EGC. P.199-200; P. 786.2008.
21. Katzung, Bertram G. Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi 12. EGC, Jakarta. P. 923-925. 2013.
22. Brooks GF, Morse SA, Butel JS, Carroll KC, Mietzner TA. Mikrobiologi kedokteran. Edisi Ke-25. Jakarta: EGC. 2013.
23. Kusumawati, DA. Risandiansyah, R. Yahya, A. Efek Kombinasi Ekstrak Metanolik Lengkuas (*Alpinia Galanga*) dengan Amoxicillin, Chloramphenicol atau Cotrimoxazole terhadap daya hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* atau *Escherichia coli*. Malang. FK UNISMA. 2019.
24. Hardianto, TWD. Delima, ER. Efek Antimikroba Ekstrak Etanol Teh Hijau (*Camellia sinensis* L. K.) terhadap

- Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Bandung. 2013.
25. Kohanski MA, Dwyer DJ, Wierzbowski J, Cottarel G, Collins JJ. Mistranslation of membrane proteins and two-component system activation trigger antibiotic-mediated cell death. 135:679–90. 2008.
 26. Taylor PW, Hamilton-Miller JMT, Stapleton PD. Antimicrobial properties of green tea catechins. Food Science and Technology Bulletin. 2:71–81. 2009.
 27. Uzulanic, AP. S`kerget, M. Knez, Z. Weinreich, B. Otto, F. Gru`ner, S. Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. Slovenia. Food Chemistry. 96:597–605; Elsevier. 2006.
 28. Zakir, M. Sultan, KB. Khan, H. Ihsanullah. Khan, MA. Fazal, H. *et al.* Antimicrobial Activity of Different Tea Varieties in Pakistan. Pakistan. Pak. J. Pharm. Sci. 2015.
 29. Hardianto, P. Antibakteri Ekstrak Jahe *Zingiber officinale* var. *Rubrum* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Akademi Farmasi Surabaya. 2016.
 30. Bisset, N. Gand, M. Witchl. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals 2 nd Ed. Germany : Medpharm Scientific Publisher. 2001.
 31. Mustchler, E. Dinamika Obat Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi. Ed.5. Bandung : Penerbit ITB. 1991.
 32. Yuharmen, Y. Eryanti, dan Nurbalatif. Uji Aktivitas Antimikroba Minyak Atsiri dan Ekstrak Metanol Lengkuas (*Alpinia galanga*). Riau : Jurusan Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Riau. 2002.
 33. Brooks, G. Jawetz, Melnick, Adelberg. Medical Microbiology. Ed.26. New York : McGraw-Hill Medical. 2012.
 34. Joenoes, Nanizar Zaman. ARS Prescibendi Resep yang Rasional Jilid 3. Surabaya: Airlangga University Press. 1994.